



⑮ **BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 100 28 901 A 1**

⑤① Int. Cl.⁷:
C 07 K 16/00
C 07 K 14/195
A 61 K 38/16
C 12 N 15/12
C 12 N 15/63
A 01 K 67/027

⑲ Aktenzeichen: 100 28 901.0
⑳ Anmeldetag: 10. 6. 2000
㉔ Offenlegungstag: 20. 12. 2001

DE 100 28 901 A 1

⑦① Anmelder:
Brüß, Michael, Dr., 53121 Bonn, DE; Bönisch, Heinz,
Prof. Dr., 53125 Bonn, DE

⑦② Erfinder:
gleich Anmelder

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

⑤④ Arminosäuresequenz

DE 100 28 901 A 1

- [0001] 1. Mit Hilfe der Aminosäuresequenz eines G Protein gekoppelten Rezeptors wurde durch Homologiesuche in einer Datenbank ein potentiell Gen für einen neuen G Proteingekoppelten Rezeptor auf dem humanen Chromosom 19 identifiziert. Aus der Gensequenz wurden Oligonukleotide zur Amplifikation des potentiellen Rezeptorgens und dessen abgeleiteter cDNA (mRNA) Sequenz hergestellt und für die PCR-Amplifikation des Gens und der cDNA eingesetzt. Mittels dieser Primer konnte das intronlose Gen aus humaner genomischer DNA kloniert und sequenziert werden. Weiterhin konnte mit anderen Primern die cDNA für die volle kodierende Region des Gens aus einer humanen Gehirn-cDNA-Bank hergestellt werden.
- [0002] Sequenzierung des Gens und der cDNA ergaben folgende Eigenschaften des Gens: das Gen (5640 Basenpaare) enthält (wie viele Gene von G Protein gekoppelten Rezeptoren) keine Introns im kodierenden Bereich. Der kodierende Bereich des Gens (Pos. 2501 bis 3694) besteht aus einem offenem Leseraster von 1194 Basen und kodiert somit ein Protein von 398 Aminosäuren. Hydrophobizitätsanalyse der Aminosäuresequenz ergibt, daß es sich um einen G Protein gekoppelten Rezeptor mit sieben transmembranalen Domänen handelt. Die Aminosäuresequenz ist neu und bisher unbekannt und weist die beste Homologie (87% Identität und 91% Homologie) zum (Endothel-differentiation-gene) Rezeptor EDG-8 der Ratte auf. Dieser Rezeptor gehört zur Familie der Spingosin-1-Phosphat-Rezeptoren welche u. a. wichtige Signalfunktionen auf im Gehirn und anderen Geweben vermitteln. Aufgrund der Homologie unseres neuen Rezeptors zur Familie der EDG-Rezeptoren ist es höchstwahrscheinlich, daß auch dieser Rezeptor zur Familie gehört und das humane Gegenstück zum EDG-8-Rezeptor der Ratte ist. Erste funktionelle Untersuchungen mit dem transfizierten Rezeptor bestätigen diese Annahme. Wir haben dem Rezeptor daher den Namen hEDG-8 gegeben. Weiterhin gehören zu der zu patentierenden Sequenz 2500 Basen des 5' nichttranslatierten Bereichs des Gens, welche vermutlich den Promotor (mit GC Boxen und CAP Signalen) enthalten, sowie 1946 Basen des 3' nichttranslatierten Gen-Bereichs, welcher mehrere typische Polyadenylierungssignale (AATAAA) im Bereich von 4500 bis 4800 enthält.
- [0003] 2. Die Expression dieses Gens wurde mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) und Primern (sense: 5'GTATCTTGCTCTCCAACAG 3'; antisense: 5'CTTGGGAAGACAGTCGTGG 3), welche die kodierende Region des Gens flankieren nachgewiesen. Dazu wurde folgendes Temperaturprogramm für die PCR verwendet: 94°C 1 min, 56°C 1 min, 72°C 3 min, 35 Zyklen. Wir konnten so die volle kodierende cDNA (offenes Leseraster) dieses Rezeptors aus einer humanen Gehirn-cDNA-Bank amplifizieren und klonieren. Hiermit ist die Expression der mRNA dieses Rezeptors in humanem Gehirn eindeutig bewiesen. PCR mit genomischer DNA und diesen Primern ergab eine Bande von identischer Größe und durch Sequenzierung wurde eindeutig bewiesen, daß das Gen intronlos ist. Weiterhin konnte durch Homologiesuche in Datenbanken von exprimierten Sequenzstücken humaner Gene (EST = expressed sequence tags) fünf exprimierte Sequenzen mit 100%iger Identität zu einem Sequenzstück der kodierenden Region des hEDG-8 Gens bzw. mRNA gefunden, welche aus humanen Multiple-Sklerose-Läsionen (3 x), humaner Niere (1 x) und humanem Adenokarzinom (1 x) stammen. Das mehrfache Auffinden von ESTs des hEDG-8 Rezeptors aus Multiple-Sklerose-Läsionen zeigt, dass dieser Rezeptor in den Multiple-Sklerose-Läsionen stark exprimiert wird. Da EDG-Rezeptoren in Oligodendrozyten als Angriffspunkt neu zu entwickelnder Pharmaka gegen demyelinisierende Erkrankungen angesehen werden, ist der EDG-8 ein Rezeptor an welchem solche Pharmaka entwickelt werden können und an welchem dann auch diese Pharmaka angreifen.
- [0004] 3. Die von der cDNA Sequenz abgeleitete Aminosäuresequenz des Rezeptors ist 398 Aminosäuren lang. Hydrophobizitätsanalyse der Aminosäuresequenz ergibt eine putative Sekundärstruktur des Proteins als integrales Membranprotein mit 7 transmembranalen Domänen. Das Protein enthält eine potentielle N-Glykosylierungsstelle im N-terminalen Bereich (Aminosäure Positionen 20). Weiterhin sind in der Aminosäuresequenz sechs potentielle Proteinkinase C Phosphorylierungsstellen (Aminosäure Positionen 22, 100, 146, 237, 309 und 363) enthalten, deren fakultative Phosphorylierung (sofern sie intrazellulär lokalisiert sind) an der Modulation der Rezeptorfunktion beteiligt sein können. In Position 79, 309, 340 und 361 der Aminosäuresequenz befinden sich potentielle Caseinkinase II Phosphorylierungsstellen. Von Aminosäureposition 121 bis 137 findet sich ein typisches Aminosäure-Motiv der Familie der G-Protein gekoppelten Rezeptoren.
- [0005] 4. Einordnung und potentielle Funktionen des zu patentierenden Rezeptors und seines Gens (bzw cDNA; mRNA):
- Der Rezeptor gehört zur großen Genfamilie der G-Protein gekoppelten Rezeptoren (GPCRs). Innerhalb dieser Großfamilie zählt er zur Sub-Familie der "Klasse A Rhodopsin-ähnlichen" Rezeptoren. Er besitzt sehr hohe Homologie zur Familie der EDG-Rezeptoren insbesondere zum EDG-8 der Ratte, und stellt somit den humanen EDG-8-Rezeptor dar, welcher bisher unbekannt war.
- [0006] EDG-Rezeptoren werden in unterschiedlichen neuronalen und peripheren Geweben exprimiert, und den einzelnen Rezeptoren kommen verschiedene Funktionen in diesen Geweben durch Kopplung an unterschiedliche second messenger Wege zu. EDG-Rezeptoren sind am Zellwachstum, der Zell-Differenzierung und -Aufrechterhaltung wesentlich beteiligt. Die Rezeptoren sind an wichtigen physiologischen und pathophysiologischen Prozessen beteiligt und spielen eine Rolle bei der Zell-Proliferation, Zell-Entwicklung, Zell-Differenzierung, Zell-Migration, Zell-Apoptose und Zell-Plastizität. Der hier von uns beschriebene humane hEDG-8 Rezeptor wird stark in Multiple-Sklerose-Läsionen exprimiert (und in der Niere und in Adenokarzinomen) und spielt mit höchster Wahrscheinlichkeit eine wichtige Rolle bei der Pathogenese bzw neuen Therapiemöglichkeiten der Multiplen Sklerose und anderer demyelinisierender Erkrankungen.
- [0007] Der von uns klonierte Rezeptor kann rekombinant exprimiert und funktionell untersucht werden. An transfizierten Zellen, welche diesen Rezeptor exprimieren bzw an Plasmamembranen solcher Zellen, können Pharmaka getestet werden, welche Agonisten oder Antagonisten an diesem Rezeptor sind. Solche Studien können als "high throughput screening" für eine Vielzahl an Chemikalien, Naturstoffen und Pharmaka durchgeführt werden (z. B. Agonisten-induzierte [35S]GTP-gamma S Bindung oder second messenger assays oder Bindungsstudien mit Radioliganden) und zur Entwicklung neuer, spezifischer Pharmaka, welche an diesem Rezeptor angreifen genutzt werden.
- [0008] Die von uns beschriebene Gensequenz kann ferner genutzt werden zur Identifizierung von Mutationen oder Po-

DE 100 28 901 A 1

lymorphismen welche die Funktion des Rezeptors oder die Expression des Gens beeinflussen bei Gesunden und bei erkrankten Patienten. Solche Informationen können dann zur Diagnose von Krankheiten und eventuell auch zu einer Gentherapie eingesetzt werden. Die funktionelle Charakterisierung des von uns beschriebenen 5' Bereichs des Gens (Promotor) kann genutzt werden, um neue Substanzen zu finden welche die Expression dieses Gens in positiver oder negativer Weise beeinflussen.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

DE 100 28 901 A 1

MBHB-Rezept-15: hEDG-8 Gen

10 20 30 40 50

1 TTGCGTCGCTGGCCCCCCCCCTCGCCTGCCAGCTCCAGCCCCCCCCCGG
5 51 AGCGGCGTCCGCTCACTCGGTTCAAGGCAGCGCGACTGCGGGTGGCGCAC
101 GACCAGGCGCAGAGTGAGTGGACTGCACTGGACCTTTGGGGGCGCTGGG
151 CTGGGCTGACCCGGAGGGGTGCGCCTGGCGGCCACTTTCCCGGTCTAA
201 AAAGGCGCACCCTCCTTGCAGGGAGTTCTCCGAACCTTTTCCTGGAGGCC
10 251 TCTGGGGAGGGGGAAGCTGGGGGCTCCCCAGCTGGGTGCAGGACCTGGGA
301 TACGGGTGAAGGTGGCTGGAATCCCCTGCCACCCCCCTCCTGGCCGGGC
351 CACTGCAAGTTTCCATACTTCAGTCCTGCTGCCGGGCAAGCTGGGCGGAT
401 GGGGTGGCCTCCCCCTCAGAGCATGTGTAACCCTGTCTCCCTGTATTG
451 GGCTCCCCACCTCCAGCATGGGTGAGCCAGCGACTTCCTGTCTATGTTG
15 501 CCTGCCTTGATTCTCTGTGTGACTGAAGCTCTCTGGGATGTCCGCATC
551 CCTGCCTTGTGCAAAAGAGATCCATTCCCCCTCCCCAGGCCTTGGCTTCT
601 CATCTGGACTTGCATGGGGACTATTTGTGCATGGATGTTTGTGTGGGAGC
651 ATGGAACCTTTGCGCCTGCTTCGATACGAAGCATTTCTTTTGAGCTTCA
701 GTTTTCTCATCTGTAAATTAGGACTAAAGGAAGTGGGGATTAATAAGGTC
20 751 ACAGAGGAGGTGAGGAGTGTATTACAGTTTAAATGACATGTGTGCCCT
801 CTGTAAGAGTCTGTTTGCCCTCTGTGGATTCTCTCCTGTCTCAGGCT
851 CTGCCTTAGTAAATGAGTGAATAGGATCACTTTTTTTTTTTTTTTTTT
901 TTTTGAGAGCGGAGTTTCTCTCTGTGCACCCAGGCTGGAGAGCAGGGGTGC
951 GATCATGGCTCACTGCAGCCTCGGCCTCCCAGGCTCAAGTGATCCTCCCG
25 1001 CCTCAGTCTCTTGAGTAGCTGGGACTATAGGGGCATAACACCACACCTGG
1051 CTAATTTTTAAATTTTTTTGTAGAGATGAAGTCTTAGTATGTTGCCAAG
1101 CTGGTGTGCAACTCCTGGGCTCAAGTGATACTCCACCTCGGCCTCCCAA
1151 AGTGCTGGGATTACAGGCGAAAGCCACTGTGCCTGGCCAAGGAGCAACTT
1201 TCTCATGGGGTTTTGGGTGGATGAGGGGGTTTTGCGAGGAAAAGCTTGT
30 1251 TATGCAGTGAGACAAGAGTGTGGAGTGTGGTGCCTGGGCCCCAGGCTAG
1301 TGTGAGTGGAGGTTGTGAAATTGTGGCCTGTGCCACTGGGTGGGAGACCC
1351 TGTATTCGTGTGACTGAATTTGGTTCGTGTGTTTCTGCCTGCGTCAC
1401 TCTGTTCTGTATGATGATTTTTTAGTTTCCCTGATAGTGTGTGACTGT
1451 GTGTTTTGCCCTTGAGTGTGTGCTGTATTTGTGTGTCTCTTTCTGTGT
35 1501 GTGTTGCGTTTGTGTGCGTTCTGTGTGTTTACTGTTACGTCTCTGGAAC
1551 CCCTGCTTGTGTGTTTGTGTGTGTGTTTGTGACAAAGTCTTGCTCTGT
1601 TGTCTTGGCTGGAGTACAGTGGCACAATCAATGCTCACTGACTGCAGCCT
1651 TGACCCCGCGGGCTCAAGTGATCCTCTCACCTCAGCTGGGACTCCACTGA
1701 GTAGCTTGGACTATAGGCATACACCAACACGTCCCGGCTAATTTTTGTAG
40 1751 AAACGGGGTTCTCCTATGTTGTCCAGGCTAATCTCGAACTCCTGGGCTC
1801 AAACAATCCTCCCGCCTCAGCCTCCCAAAGTGCTGGAATTACAGGAGTGA
1851 GCCACCACACCCAGCCGTGTGTGTGTTGGTGGGAGGGGGGGTGTTTTG
1901 AGACAGAGTCTCGCTCTGCCACCTAGGTTGGAGTGCAGTGATGCGATCTC
1951 GGCTCACTGCAACCTCCGCCCTCCTGGGTTCAAATGATTCTTCTGCCTCAG
2001 CCTCTGGAGTACCTGGGACTACAGGCACGTGCCACCATGCCTGGCTAATT
45 2051 TTTTGTGTTTTTAGCAGAGACGAGGGGTTACCGTGTTAGCCAGGATGG
2101 TCTCGATCTCCTGACCTCGTGATCTGCCCCCTTGGCCTCCCAGGCCTGA
2151 GCCACTGCCCTCAGGCCTGAGCCTGGGGGGATTACAGCGGGGATTACAGG
2201 CCTGAGCCACCGCGCCAGCCATGTGTGAACCACCGCGCCAGCCATTCA
2251 TGTGTTATTAATGTCCCTTTTTTGGGACTATGTACCTTGTTCCCTCGT
50 2301 GATATTATTTGTGTGTATGTCTGTCTCCACGGACTCTATCCCTCCATCCT
2351 GAACTCCCCCTTGGACACCATGTATAGGGGGTGATGGTCAGTGGGTAGGG
2401 CCCCTTTCCACGACTTAGCCGGCTGCTGCGAGCGTGCTTACGGGGACCG
2451 CGGCCTGACACCGTATCTTGCTCTCCAACAGCCTTGGGGCGCGCGGCC
55 2501 ATGGAGTCGGGGCTGCTGCGGCCGGCGCGGTGAGCGAGGTATCGTCCT
2551 GCATTACAATAACCGGCAAGCTCCGCGGTGCGCGCTACAGCCGGGTG
2601 CCGGCCTGCGCGCGGACGCCGTGGTGTGCTGGCGGTGTGCGCCTTCATC
2651 GTGCTAGAGAATCTAGCCGTGTTGTTGGTGTGCTCGGACGCCACCCGCGCTT
2701 CCACGCTCCCATGTTCTGCTCCTGGGCAGCCTCACGTTGTGCGATCTGC
2751 TGGCAGGCGCGCCTACGCCGCCAACATCCTACTGTGCGGGCGCGCTCACG
60 2801 CTGAAACTGTCCCCGCGCTCTGGTTCGCACGGGAGGAGCGCTCTTCGT
2851 GCGACTCACTGCGTCCGTGCTGAGCCTCTGGCCATCGCGCTGGAGCGCA
2901 GCCTCACCATGGCGCGCAGGGGGCCGCGCCGCTCTCCAGTCGGGGGCGC
2951 ACGCTGGCGATGGCAGCCGCGCCTGGGGCGTGTGCTGCTCCTCGGGCT

65

3001 CCTGCCAGCGCTGGGCTGGAATTGCCTGGGTCGCCTGGACGCTTGCTCCA
 3051 CTGTCTTCCGCTCTACGCCAAGGCTACGTGCTTCTGCGTGCTCGCC
 3101 TTCGTGGGCATCCTGGCCGCTATCTGTGCACTCTACGCGCGCATCTACTG
 3151 CCAGGTACGCGCCAACGCGCGGCGCTGCCGGCAGGCCCCGGGACTGCGG
 3201 GGACCACCTCGACCCGGGCGCGTCGCAAGCCGCGCTCGCTGGCCTTGCTG
 3251 CGCACGCTCAGCGTGGTGTCTCTGGCCTTTGTGGCATGTTGGGGCCCCCT
 3301 CTTCTGTGCTGTTGCTCGACGTGGCGTGCCCGCGCGCACCTGTCTGT
 3351 TACTCCTGCAGGCCGATCCCTTCTGGGACTGGCCATGGCCAACACTCACTT
 3401 CTGAACCCCATCATCTACACGCTACCAACCGCGACCTGCGCCACGCGCT
 3451 CCTGCGCTGGTCTGTCTGCGGACGCCACTCCTGCGGCAGAGACCCGAGTG
 3501 GCTCCCAGCAGTCGGCGAGCGCGGCTGAGGCTTCCGGGGGCTGCGCCGC
 3551 TGCTGCCCCCGGGCCTTGATGGGAGCTTCAGCGGCTCGGAGCGCTCATC
 3601 GCCCCAGCGCGACGGGCTGGACACCAGCGGCTCCACAGGCAGCCCCGGTG
 3651 CACCCACAGCCGCCCGGACTCTGGTATCAGAACC GGCTGCAGACTGACAC
 3701 CCTCGGCCCCAGACTGTCTTCCCAAGTTTACAGACTTGTCTTTTTTACA
 3751 TAAAGGAATTTGTAGGAAATGCAGCCAAAGGTGCAGTCGGAAAAGATGCA
 3801 GGGGAAATGTATTTATGCAGCGACACCCCAATGTGAACAAACAGACAA
 3851 AAAATCTGTGCCCTCGTGGAAATGACGTTCTGCTTGGGAACACAGAAAAG
 3901 AACTCGGTGATGAAATAATGGAGATGATTCCAGTGACAAACGACAGAGAT
 3951 GGTGATGGTGGTCAGGGAAGACCTCTCTGCAGAGGTAGTGACTTGTGATG
 4001 TGAGCTGAGACCTCTGTCTGGGAAGACCAAAAGAAAAGCATTTTCAGGAT
 4051 GAGGGAATGGCATGCGCAAAGGCCCTGAGGCTGAAATGTGCCCATGTGTT
 4101 CTAAGAAATGCAGCGATGCTGGTGTGCCTGGAGCAGGGACGGAGGGGGAG
 4151 AATGGGAGGAGACAAGGAGCTGAAGGAGTAGTTCCCGAAGGACCTTGTGG
 4201 GTGATATAGAGGACTTCGCTTTTGCTCTGAGTGAGGTGGGAGCCATAGAA
 4251 GCTTCTAAGCAGAAGAGGGACTTGCCCTAATTCAGGTGATCACAGGTGTC
 4301 TTGTGGCCTCCATGGGAGGTTGAAAACCAGAGAAGGTGAAGGGGGGCTGC
 4351 ACTGAGCCACAGGAACAATGATGGAGATTCCAGCTAAGCCCAGACCCCGT
 4401 GGATTCTAGATAGATTTTAGAGGCAGCAGACAGAATTACTGAGGAATTGA
 4451 GTGTAAGAGTGGAAATAAAGTTATCAAGGACAATGCCAAGGGTGGGGCACC
 4501 CCCAAATTTGACTCTGGGAGACTCAGCCAAATCCTATCTGGTAATAAAAT
 4551 TTCTTTTTTATTTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTTCTTTTTTTTTTGTAG
 4601 TTGGGATCTTGTGCTCTGTCAACCAGGCTGGAGTGCAATGGGCACAATTA
 4651 TAGCTCACTGCAGCCTGGAACCTCCTGGGATCAAGCCTGGAGTTCCTGCTT
 4701 CAGCCTCCCTAGTAGCTGGGACTACAGGCATGCACCACCATGCCAGTTA
 4751 ATAAATTTCTTCAAATGCAGTTTCAGATCCTTCATTAAGAAATAATA
 4801 ATAATAGGCTGGGTGCCGTGACTCATGCCTCTAACCCAGCACTTTGGGA
 4851 GGCAGAGGTGGGCAGATCACCTGATGTGAGGAGTTTGAGACCAGTTTGGC
 4901 CAACATGGTGAAACCCCATCTCTACTAAAAATACCAAAATTAGCCAAGTG
 4951 TGATGGCTTACGCATATAGTTCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGGCAGGAGA
 5001 ATCCCTTGAAACTGGGAGGCGGAGGTTGCAAAGAGCTGCACTCCAGCCTG
 5051 GGTAACAAAGTGAGACTCGGTCTAAAAAAAAAAAAAAAAAAGGATA
 5101 ACAAATAAGGCCAGACACAGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAACACTTTG
 5151 GGAGGCTGAGGCAGAAGGATCGATTGAGGCTGGGAGTTTGAGACCAGCCT
 5201 GGTCAACATAGTGAGACCCCATCTCTACAAAAATTTTAAAAATTAGGCA
 5251 GTTGTGGTTACGCATGCCTATAGTCACAGCTACTGGGGAGGCTGAAGAAG
 5301 GAGGATTTCCAGAACCCAGGAGCTCAGGGGCTGCAGTGAGCTATTTTTGC
 5351 ATAACGAACTCCAGCCTGTGTGATGAAATCATGTCTTTTAGGAAAACAT
 5401 AAGAGGTTTTTGGTTTTCTTTTTTTTTTTTTTTTGAGATGGAGGCTCA
 5451 CTCTATACCCAGGCTGGAGTGAGTGCGCAATCTCGGCTCACTGTAAG
 5501 CTCCACCTCCAGGTTACGCCATTCTCCTGCCTCAGCTTCCCAAGTAGC
 5551 TGGGACTACAGGTGCCCGCCACCAAGCATGGCTAATTTTTTGTATTTTT
 5601 AGTAGAGATGGGGTTTCACAGTGTAGCCAGGATGGTCTT

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

MBHB-Rezept-15: hEDG-8 cDNA

2501 ATGGAGTCGGGGCTGCTGCGGCCGGCGCCGGTGAGCGAGGTCATCGTCCT
 5 2551 GCATTACAACATACACCGGCAAGCTCCGCGGTGCGCGCTACCAGCCGGGTG
 2601 CCGGCCCTGCGCGCCGACGCCGTGGTGTGCTGCGGTGTGCGCCTTCATC
 2651 GTGCTAGAGAATCTAGCCGTGTTGTTGGTGCTCGGACGCCACCCGCGCTT
 2701 CCACGCTCCCATGTTCTGCTCCTGGGCAGCCTCACGTTGTGCGATCTGC
 2751 TGGCAGCGCGCCCTACGCCCAACATCTACTGTCGGGGCCGCTCACG
 10 2801 CTGAAACTGTCCCCCGCGCTCTGGTTCGCACGGGAGGGAGGCGTCTTCGT
 2851 GGCACCTCACTGCGTCCGTGCTGAGCCTCCTGGCCATCGCGCTGGAGCGCA
 2901 GCCTCACCATGGCGCGCAGGGGGCCCGCGCCCGTCTCCAGTCGGGGGCGC
 2951 ACGCTGGCGATGGCAGCCGCGCCCTGGGGCGTGTGCTGCTCCTCGGGCT
 3001 CCTGCCAGCGCTGGGCTGGAATTGCCTGGGTGCGCTGGACGCTTGCTCCA
 15 3051 CTGCTTGTCCGCTCTACGCCAAGGCCTACGTGCTCTTCTGCGTGTCTGCC
 3101 TTCGTGGGCATCTTGGCCGCTATCTGTGCACTTACGCGCGCATCTACTG
 3151 CCAGGTACGCGCCAACGCGCGCGCCTGCCGGCAGGCGCCGGGACTGCGG
 3201 GGACCACCTCGACCCGGGCGCGTGCAGCCGCGCTCGTGGCCTTGCTG
 3251 CGCACGCTCAGCGTGGTGTCTCTGGCCTTTGTGGCATGTTGGGGCCCCCT
 3301 CTTCTGCTGCTGTTGCTCGACGTGGCGTGGCCGCGCGCACCTGTCTG
 20 3351 TACTCTGCAGGCCGATCCCTTCTGGGACTGGCCATGGCCAACCTCACTT
 3401 CTGAACCCCATCATCTACACGCTCACCAACCGGACCTGCGCCACGCGCT
 3451 CTTGCGCTGGTCTGCTGCGGACGCCACTCCTGCGGCAGAGACCCGAGTG
 3501 GCTCCCAGCAGTCGGCGAGCGCGGCTGAGGCTTCCGGGGGCTGCGCCGC
 3551 TGCCTGCCCCCGGGCCTTGATGGGAGCTTACGCGGCTCGGAGCGCTCATC
 25 3601 GCCCCAGCGGACGGGCTGGACACCAGCGGCTCCACAGGCAGCCCCGGTG
 3651 CACCCACAGCCGCCGGACTCTGGTATCAGAACCGGCTGCAGACTGACAC
 3701 CCTCGGCCACGACTGTCTTCCAAG

30 MBHB-Rezept-15: hEDG-8 Aminosäuresequenz

MESGLLRPAP VSEVIVLHYN YTGKLRGARY QPGAGLRADA VVCLAVCAFI VLENLAVLLV
 LGRHPRFHAP MFLLLGSLTL SDLLAGAAYA ANILLSGPLT LKLSPALWFA REGGVFVALT
 ASVLSLLAIA LERSLTMARR GPAPVSSRGR TLAAMAAAWG VSLLLGLLPA LGWNCLGRLD
 35 ACSTVLPPLA KAYVLFVLA FVGILAAICA LYARIYCQVR ANARRLPARP GTAGTTSTRA
 RRKPRSLALL RTLSVLLAF VACWGPLFLL LLLDVACPAR TCPVLLQADP FLGLAMANSI
 LNPIIYTLTN RDLRHALLRL VCCGRHSCGR DPSGSQQSAS AAEASGGLRR CLPPGLDGSF
 SGERSSPQR DGLDTSGSTG SPGAPTAART LVSEPAAD

40 Patentansprüche

1. Dieses Patent soll sich erstrecken auf folgende Daten, Techniken und Anwendungen und Entwicklungen:
Das dargestellte Gen inclusive des 5' und 3' nichttranslatierten Bereichs.
2. Transkriptionsfaktoren, RNA Polymerasen und Pharmaka sowie Chemikalien die die Expression des Gens in
45 positiver oder negativer Weise beeinflussen.
3. Die von dem Gen transkribierte messenger RNA inclusive davon abgeleitete Spleißvarianten und Isoformen.
4. Die von der mRNA oder von dem intronlosen Gen abgeleitete cDNA.
5. Das von der mRNA (oder dem Gen oder der cDNA) abgeleitete oder hergestellte Protein.
6. Antikörper oder Antiseren, welche gegen einzelne oder mehrere Epitope des Proteins oder gegen das ganze Pro-
50 tein hergestellt werden.
7. Monoklonale Antikörper oder Antiseren, die gegen einzelne oder mehrere Epitope des Proteins oder gegen das
ganze Protein hergestellt werden.
8. Expressionssysteme (eukaryotische Zelllinien, Hefezellen, Xenopus Oocyten, Baculovirussysteme, Insektenzell-
systeme, bakterielle Expressionssysteme), welche das genannte Protein exprimieren (nativ oder recombinant).
- 55 9. Ligand Bindungsstudien und Screening-Assays an nativen oder recombinanten Rezeptoren oder Zellen oder
Zellmembranen, welche diesen Rezeptor enthalten.
10. Transgene Tiere und knock-out Tiere, welche diesen Rezeptor oder die entsprechende Speziesvariante in ver-
änderter Dichte oder gar nicht exprimieren.
11. Methoden der Gentherapie, welche sich auf diesen Rezeptor bzw sein Gen oder seine mRNA (cDNA) erstrek-
60 ken und deren Entwicklung und Anwendung.
12. Sense- und Antisense-Oligonukleotide, welche von diesem Gen abgeleitet wurden sowie deren Anwendung.
13. Die Diagnose und Behandlung von Krankheiten, die mit diesem Rezeptor in direkter oder indirekter Weise in
Verbindung stehen.
14. Methoden zur Diagnose von Erkrankungen, die mit diesem Rezeptor (oder dessen Gen, mRNA) in direkter
65 oder indirekter Weise in Verbindung stehen wie z. B. Hybridisierungstechniken, Sequenzierung, SSCP, RFLP, North-
ern Blot, Southern Blot, Western Blot, Expressions-Arrays, Antikörper, Mutationsanalysen.
15. Die Benutzung der Informationen zur Entwicklung neuer Pharmaka, Verbindungen und Chemikalien und die
Evaluierung vorhandener Pharmaka, Verbindungen und Chemikalien sowie zur Entwicklung neuer Technologien

DE 100 28 901 A 1

oder Evaluierung vorhandener Technologien.

16. Das Patent soll sich auch erstrecken auf die Punkte 1. bis 15. für modifizierte Proteine und Gen-, cDNA- und mRNA-Sequenzen (Aminosäureaustausche, Basenaustausche).

17. Diagnostische, therapeutische und gentherapeutische Verfahren und Pharmaka zur Therapie und Diagnose der multiplen Sklerose und anderer demyelinisierenden Erkrankungen welche mit diesem Gen bzw dem von diesem Gen kodierten Rezeptor in Zusammenhang stehen. 5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

- Leerseite -